

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta
Katedra botaniky

Studijní program: Biologie
Studijní obor: EKOEVOBI



HANA PŘÍVOZNÍKOVÁ

***LIBANOTIS PYRENAICA* – UNIKÁTNÍ POLYPLOIDNÍ KOMPLEX
V ČELEDI *APIACEAE***

***LIBANOTIS PYRENAICA* – A UNIQUE POLYPLOID COMPLEX IN THE FAMILY
*APIACEAE***

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce: MGR. JINDŘICH CHRTEK, CSc

Praha, 2013

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 17.5.2013

Podpis:

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala v první řadě svému školiteli Jindřichu Chrtkovi, jemuž vděčím nejen za zajímavé téma, ale též za mnohé cenné rady.

*Můj vděk si také zaslouží Tomáš Urfus a Filip Kolář za umožnění analýzy vzorků *Libanotis pyrenaica* na cytometru.*

A konečně bych touto cestou ráda poděkovala své rodině za neutuchající podporu a svému příteli za jeho zájem a trpělivost.

Obsah

Abstrakt.....	5
Abstract	6
1. Úvod.....	7
2. <i>Libanotis</i> – samostatný rod nebo součást rodu <i>Seseli</i>?	7
3. <i>Libanotis pyrenaica</i>	8
3.1 Morfologická charakteristika	8
3.2 Morfologická proměnlivost a vnitrodruhové členění.....	10
3.3 Ekologie	11
3.4 Rozšíření rodu <i>Libanotis</i>	12
3.4.1 Rozšíření <i>Libanotis pyrenaica</i> ve světě	12
3.4.2 Rozšíření <i>Libanotis pyrenaica</i> v ČR.....	13
3.4.3 Rozšíření <i>Libanotis</i> v sousedních zemích	14
3.4.3.1 Slovensko	14
3.4.3.2 Rakousko	15
3.4.3.3 Německo.....	15
3.4.3.4 Polsko	16
3.4.4 Rozšíření ve zbytku Evropy	16
3.4.4.1 Skandinávie, Finsko	16
3.4.4.2 Britské ostrovy	16
3.4.4.3 Francie	16
3.4.4.4 Pyrenejský poloostrov	17
3.4.4.5 Jižní Evropa.....	17
3.4.4.6 Rusko.....	17
3.4.4.7 Bělorusko	17
3.4.4.8 Rumunsko.....	17
3.4.4.9 Ukrajina.....	18
3.4.4.10 Bulharsko	18
4. Polyploidie.....	18
4.1 Rozdílnost mezi cytotypy v rámci jednoho druhu	19
4.2 Ploidně smíšené populace	21
4.3 Velikost genomu.....	21
4.4 Ploidie <i>Libanotis pyrenaica</i>	22
5. Průtoková cytometrie.....	23
5.1 Klady a zápory průtokové cytometrie	23
6. Praktická část – zkoumání žebřice	24
6.1 Příprava vzorků	25
6.2 Výsledky	25
7. Otázky kladené do navazující magisterské práce	27
8. Závěr.....	28
9. Seznam použité literatury.....	29
9.1 Seznam použitých webových stránek	35
9.2 Seznam map k rozšíření <i>Libanotis pyrenaica</i>	36
10. Přílohy	37
Příloha 1. Tabulka s chromozomy a citacemi.	37

Abstrakt

Libanotis pyrenaica je občas opomíjenou rostlinou naší květeny z čeledi *Apiaceae*. Vyskytuje se na xerothermních a bazických stanovištích, zejména vápencích. Najít ji můžeme na keřnatých, kamenitých nebo travnatých stráních, drovinách, v lomech, na pastvinách, ve světlých lesích, podél silnic, na železničních náspech, březích řek nebo na zříceninách hradů. U nás je *Libanotis pyrenaica* původní, ale v některých územích se sekundárně šíří (podél toků řek, železničních tratí...) Druhotný výskyt je u nás uváděn zejména z východních Čech. Z českých zemí známe dvě ploidní úrovně, $2n = 2x = 22$ a $2n = x = 44$. Diploidní rostliny se vyskytují na jihu Čech (Sušicko-horažďovické vápence a Českokrumlovské Předšumaví), zatímco tetraploidní cytotyp byl zatím zjištěn ve východních Čechách a na jižní Moravě. V ostatních evropských státech je naproti tomu rozšířenější diploidní cytotyp. Frekvence a přesnější geografické rozšíření obou ploidních úrovní jsou zatím neznámé.

Klíčová slova: *Libanotis pyrenaica*, *Seseli*, žebřice pyrenejská, diploid, tetraploid, rozdílnost mezi cytotypy, *Apiaceae*, průtoková cytometrie

Abstract

Libanotis pyrenaica is sometimes neglected representative of Czech flora, a member of Apiaceae family. It grows in xerothermic habitats, on basic soils, particularly on limestones. It can be found on shrubby, stony or grassy slopes, screes, in quarries, pastures, light forests, along the roads and railroads, river banks and in castle ruins. *Libanotis pyrenaica* is native to the Czech Republic, but is spreading secondarily to many habitats (along the river banks, railroads). Its secondary occurrence has been documented in e.g. Eastern Bohemia. There are two ploidy levels known in the Czech Republic: $2n = 2x = 22$ and $2n = 4x = 44$. Diploid plants were found in Southern Bohemia (limestones of Sušicko-Horaždovice region, Českokrumlovské Předšumaví region), while the tetraploid plants were detected in Eastern Bohemia and Southern Moravia. In contrast, diploids seem to prevail throughout Europe. However, exact frequency, geographical occurrence and differentiation of both ploidies are unknown up to date.

Key words: *Libanotis pyrenaica*, *Seseli*, Moon Carrot, diploid, tetraploid, cytotype differentiation, *Apiaceae*, flow cytometry

1. Úvod

Pro svoji bakalářskou práci jsem si vybrala téma karyologické diferenciace diploidů a tetraploidů *Libanotis pyrenaica* v České republice (a případně v sousedních zemích), které bude výzvou i pro navazující magisterskou práci, která tuto málo probádanou problematiku bude moci dál rozvést. O tom jak – více na konci této práce. To, že v Česku rostou diploidi i tetraploidi *Libanotis pyrenaica* literatura naznačuje, neuvádí ale jejich přesnější rozšíření, případné morfologické charakteristiky a ekologické nároky. Říkám-li, že pramenů informací je málo, dvojnásob to platí pro ostatní státy, které, jak se zdá, dostatečně podrobně zmapované nejsou.

Předkládaná práce obecně shrnuje poznatky o vnitrodruhové ploidní diferenciaci, poznatky o *Libanotis pyrenaica* a dívá se na průtokovou cytometrii jako na zásadní metodu k poznání frekvence a zeměpisného rozšíření jednotlivých ploidí.

Žebřice pyrenejská patří do čeledi *Apiaceae* (= *Umbelliferae*), která se vyznačuje nízkou tendencí k hybridizaci a polyploidizaci a malou variabilitou v počtu chromozomů (diploidi, většinou $2n = 22$; Slavík & Tomšovic, 1997; Schwarzová, 2012). Z České republiky zatím známe diploidy i tetraploidy jen u druhů *Pimpinella saxifraga* (Štěpánek, 1997; Mozolová, 2007) a právě *Libanotis pyrenaica* (Slavík & Tomšovic, 1997). Zatímco u druhu *Pimpinella saxifraga* jsou geografické a ekologické vazby již alespoň zčásti známé (Mozolová, 2007), o *Libanotis pyrenaica* se z tohoto hlediska neví doposud téměř nic.

Cílem práce je získat ucelený přehled o rozšíření *Libanotis pyrenaica* v České republice, i v Evropě, shrnout její známé chromozomové počty a zaplnit mezeru ve znalostech o diferenciaci obou cytotypů. Vzhledem k současné neprobádanosti posledního bodu jsem se musela omezit pouze na nastínění rozdílů na základě jiných druhů rostlin.

2. *Libanotis* – samostatný rod nebo součást rodu *Seseli*?

Rod *Libanotis* (v systému: *Plantae* - *Magnoliophyta* – *Rosopsida* – *Apiales* – *Apiaceae*) bývá některými autory řazen taxonomicky do široce pojatého rodu *Seseli* (ve většině evropských děl se tedy setkáváme se jménem *Seseli libanotis*), v českých zemích a na Slovensku však mimo jiné díky tradici (Presl, 1846; Opiz, 1852; Dostál, 1950; Dostál, 1958; Slavík & Tomšovic, 1997; Kubát et al., 2002; Danihelka et al., 2012) zůstává uznávaný jako samostatný rod. Jako rod je uveden též ve starších vydání Rothmalerova klíče

(Rothmaler et al., 1984, 1994, 2007); ve Flóře Polska (Pawłowski et al., 1960), nebo Flóře Sovětského svazu (Bobrov et al., 1973). Naopak do rodu *Seseli* je řazen v posledních vydáních Rothmalerova klíče (Jäger, 2011) a rakouského klíče (Fischer et al., 2008). Oddělení od rodu *Seseli* se opírá zejména o rozdíly ve tvaru kališních cípů, v přítomnosti listenů obalu (u *Seseli* nejsou vyvinuty) a odění dvounažek (kratičce chlupaté u *Libanotis*, lysé u *Seseli*) (např. She et al. 2005) a o znaky na pylových zrnech (Doğan Güner et al., 2011). Naopak Pardo (1981) uvádí, že nenašel žádný přesvědčivý argument pro vyčlenění *Libanotis* do samostatného rodu. V poslední době se více autorů přiklání k širěji pojatému rodu *Seseli* (např. Fröberg, L., 2008 – www 2), taxonomické vztahy v této skupině ale zůstávají nevyjasněné a vyžadují další studium.

Rod *Seseli* v širokém pojetí (incl. *Libanotis*) zahrnuje 96–118 druhů (v úzkém cca 80; She et al., 2005), samostatný rod *Libanotis* 10–30 druhů (Bobrov et al., 1973; Slavík & Tomšovic, 1997; She et al., 2005).

3. *Libanotis pyrenaica*

Libanotis pyrenaica je morfologicky velmi variabilní, z našeho území je uváděna pouze nominátní subsp. *pyrenaica* (Slavík & Tomšovic, 1997) (viz 3.2). Pro úplnost připojuji základní synonymiku (vztahující se k širokému pojetí druhu; Slavík & Tomšovic, 1997).

Libanotis pyrenaica (L.) Bourgeau – žebřice pyrenejská

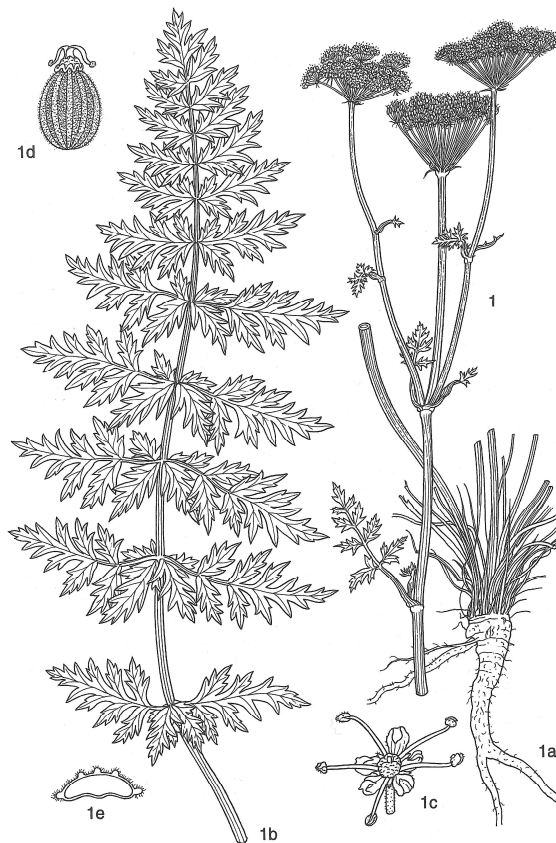
Syn.: *Crithmum pyrenaicum* L., *Athamanta libanotis* L., *A. sibirica* L., *Libanotis montana* Crantz, *L. daucoides* Scop., *Seseli libanotis* Koch, *Libanotis vulgaris* DC., *L. sibirica* (L.) C.A. Meyer, *L. daucifolia* Reichenb., *L. intermedia* Rupr., *L. humilis* Schur, *L. leiocarpa* Simonkai, *Seseli libanotis* (L.) Koch subsp. *sibiricum* (L.) Thell, *Balinotella libanotis* (L.) Soják

3.1 Morfologická charakteristika

Libanotis pyrenaica (obr. 1) je dvouletá až vytrvalá rostlina (Hegi, 1927) dorůstající asi (30–)60–120(–150) cm (Slavík & Tomšovic, 1997). Lodyha přímá, bývá bohatě větvená, hluboce rýhovaná, může být pýřitá nebo lysá (Dostál, 1950).

Na její bázi se nachází čupřina vláken, zbytky odumřelých listů. Oddenek má žebřice krátký, až 3 cm široký, jemně kroužkovaný (Slavík & Tomšovic, 1997) a vonící po mrkvi (Hegi, 1927).

Přízemní listy jsou v obrysu eliptické až široce eliptické, (25–)30–38(–40) cm dlouhé, 15–35 cm široké (Slavík & Tomšovic, 1997), podle Uhrové (1984) u nás nejčastěji 2x zpeřené, méně často 1x a nejdříve 3x a mohou být pýřité nebo lysé. Úkrojky jsou úzce eliptické až vejčité, nejvýraznějším znakem lišícím se od jiných rostlin čeledi *Apiaceae* je existence nejnižšího páru lístků u větene v křížovém postavení (tj. dolní úkrojek je výrazně větší než ostatní). Dolní listy jsou větší, více dělené a s delšími řapíky než listy horní, nejhořejší přisedlé (Dostál, 1950). Řapík je víceméně oblý, s výrazným žlábkem, u lodyžních lístků přecházející v objímavou pochvu (Slavík & Tomšovic, 1997).



Obr. 1 *Libanotis pyrenaica* (převzato ze Slavík & Tomšovic, 1997). 1a kořen s čupřinou odumřelých listů, 1b list, 1c květ, 1d schizokarp, 1e příčný řez plůdkem.

Libanotis pyrenaica kvete okolíky, které jsou složeny z 20–40 okolíčků (Slavík & Tomšovic, 1997). U množství listenů se literatura liší. Květena ČR (Slavík & Tomšovic, 1997) uvádí, že obaly jsou složeny z 5 až 8 brvitých listenů, Uhrová (1984) se zmiňuje o počtu 8 a více, dlouhých 5 až 15 mm. Okolíky mají stopku 3–4(–5) cm dlouhou, krátce chlupatou. Okolíčky jsou složeny z (30–)35–45 květů, jejich obalíčky z přibližně 10 listenů, které dosahují délky květní stopky, nebo jsou delší (Slavík & Tomšovic, 1997).

Květy jsou oboupohlavné, pětičetné (s výjimkou gynecia). Kališní lístky bývají čárkovité až vejčitě kopinaté, pýřité, až 1 mm dlouhé (Uhrová, 1984), za plodu opadavé (Slavík & Tomšovic, 1997). Korunní lístky jsou okrouhle vejčité, asi 1 mm dlouhé, bílé nebo růžové (Hlavaček et al., 1984).

Vejcovitý až elipsoidní schizokarp dlouhý přibližně 2,5–3 mm a 1,5–2,5 mm široký, obvykle hustě chlupatý, se po dozrání poltí na dva merikarpy, které jsou kratičce chlupaté, později olysávající. Čnělka je vždy nazpět ohnutá podél perikarpu (Uhrová, 1984), dosahuje přibližně 1/3 délky plodu, žebra úzká a světlejší, rýhy (valekuly) široké, hnědočervené (Kovaříková, 1978).

Pylovými zrny, jejich velikostí, tvarem a odlišností od jiných *Seseli* se zabývali Doğan Güner et al. (2011). Popisují pyl *Libanotis* jakožto mající dlouhou ektoaperturu, eliptickou endoaperturu, krátké collumely na pólech a dlouhé v ekvatoriální rovině.

Libanotis pyrenaica kvete v červenci až září (Slavík & Tomšovic, 1997).

3.2 Morfologická proměnlivost a vnitrodruhové členění

Libanotis pyrenaica je variabilní zejména ve tvaru a způsobu členění listů a v odění lodyh, stopek okolíčků a plodů. Již Linné (1753) popsal chlupaté rostliny s dvakrát zpeřenými listy, polokulovitými okolíčky jako *Athamanta libanotis* a rostliny se zpeřenými listy a hrubě zubatými jako *Athamanta sibirica*. V současné době je nejčastěji používané členění na dvě subspecie (např. Heywood & Tutin, 1968; Hlavaček et al., 1984; Fischer et al., 2008):

1. ***Libanotis pyrenaica* subsp. *pyrenaica*** (Syn.: *Seseli libanotis* subsp. *libanotis*, *Libanotis pyrenanica* subsp. *bipinnata* (Čelak.) Holub, *Libanotis montana* subsp. *bipinnata* (Čelak.) Dostál) – čepel dolních listů 2–3x peřenosečná, úkrojky podlouhlé až kopinaté, často srpovitě prohnuté, na vrcholu špičaté, rostliny 15–50 cm vysoké, obvykle rostoucí na zarostlých skalách, travnatých svazích, lesostepích, pahorkatinách i horách (Dostál, 1950).

2. ***Libanotis pyrenaica* subsp. *intermedia*** (Rupr.) Soó (Syn.: *Seseli libanotis* subsp. *intermedium* (Rupr.) P. W. Ball) – čepel dolních listů jednoduše (vzácně 2x) peřenosečná, úkrojky vejčité, na okraji hrubě zubaté, na vrcholu tupé, s víceméně zakrnělými obaly (Dostál, 1958); rostliny (60–)100–150(–200) cm vysoké. U nás se zřejmě nevyskytuje, na Slovensku se s ní můžeme setkat např. v Pieninách (Dostál, 1950).

Někteří autoři sem řadí i taxon *Seseli sibiricum* (L.) Garcke [*Athamantha sibirica* L., *Seseli libanotis* subsp. *sibiricum* (L.) Thell.; např. Pimenov, 1993; She et al., 2005)], jiní autoři ho považují za samostatný druh (Heywood & Tutin, 1968; Fröberg, 2008).

Současně ale mnozí autoři připouští, že oba typy jsou spojené řadou přechodů a jejich taxonomická hodnota může být nižší (Fröberg, 2008;). Problematika vyžaduje další podrobné

studium, mimo jiné i objasnění doposud neznámých vztahů mezi morfologickou proměnlivostí a stupněm ploidie (blíže viz 4.1 a 4.4).

3.3 Ekologie

Libanotis pyrenaica se v našich podmínkách vyskytuje zejména na travnatých či křovinatých stráních a skalách, v lesních lemech a světlinách, na svahových sutích a suchých i slatinných loukách, ale i na řadě stanovišť bezprostředně podmíněných lidskou činností jako jsou hradní zříceniny, kamenolomy, železniční náspy či kamenné navigace řek a kanálů (Slavík & Tomšovic, 1997; Uhrová, 1984). Je to teplomilný druh, vyhledávající slunná a suchá místa. Obvykle obsazuje zejména výslunné jihovýchodní až západní svahy (Uhrová, 1984), nesnáší zastínění. Vyskytuje se v nadmořské výšce 150 až 2 000 m (Uhrová, 1984).

Libanotis pyrenaica je kalcifilním druhem. Proto se jí zřejmě tolik daří na již zmíněných hradech, kde lze předpokládat obohacení půdy vápníkem z malty. Nalézá se také na dalších horninách – např. znělcích a čediči. Méně se vyskytuje na těch minerálně chudších (žuly, ruly, fylity; Uhrová, 1984). Roste na půdách nepříliš silných z hlediska množství živin, na bazických podkladech, serpentinitech, snáší též těžké jílovité půdy (Slavík, & Tomšovic, 1997).

Podle Ellenbergových indikačních hodnot bychom mohli říct, že *Libanotis* vyžaduje mírné oslunění (L7), je indiferentní vůči teplotě (Tx), není kontinentálně vyhraněná (K5), je druhem suchých půd (F3), neutrální až zásadité reakce (R8), na extrémně chudých či oligotrofních stanovištích (N2) (www 12).

Vztah mezi ekologií a ploidií či morfologií ale zatím u *Libanotis pyrenaica* není znám, bude proto vyžadovat další studium.

Libanotis pyrenaica se vyskytuje zejména ve společenstvech svazů *Geranion sanguinei* a *Seslerio-Festucion glaucae*.

V Česku i v dalších státech (od Francie až po jihozápadní Sibiř) bývá někdy parazitována u nás silně ohroženou zárazou *Orobanche alsatica* (*Orobanchaceae*) (Zázvorka, 2000). Z naší republiky je taková lokalita známa například z jižních Čech, respektive z Prokešovy zahrady v Českém Krumlově či z Českého středohoří (Janáková & Kubešová, 2009).

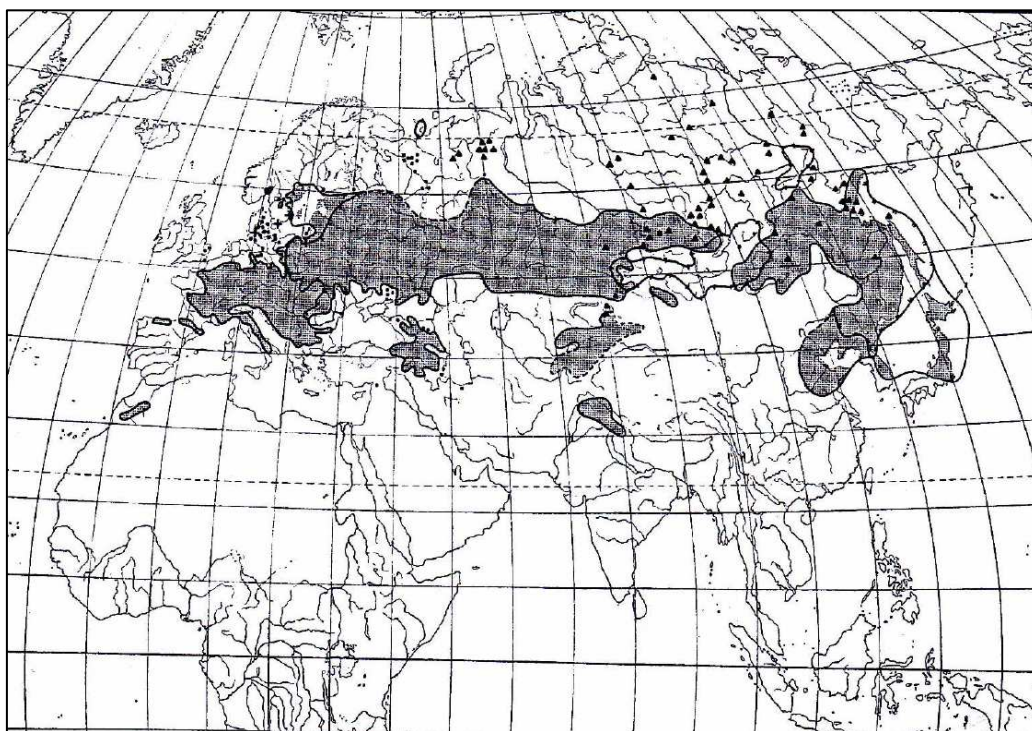
Libanotis je entomogamní rostlina, opylovaná dvoukřídlým hmyzem (*Diptera*) a brouky (*Coleoptera*) (Slavík & Tomšovic, 1997).

3.4 Rozšíření rodu *Libanotis*

Rod *Libanotis* je rozšířen v mírném pásu severní polokoule. V Eurasii je rozlišováno 10–15 druhů (Bobrov et al., 1973; Slavík & Tomšovic, 1997), některými autory ale až třicet druhů (She et al., 2005). Tato nesrovnalost jen dokazuje již zmíněné taxonomické problémy (viz 2. a 3.2).

Též se vyskytuje na severu Afriky (Bonnier, 1911; Meusel et al., 1978a,b; www 6;) a byla zavlečena do východní části Severní Ameriky (Uhrová, 1984; Sell & Murrell, 2009).

3.4.1 Rozšíření *Libanotis pyrenaica* ve světě



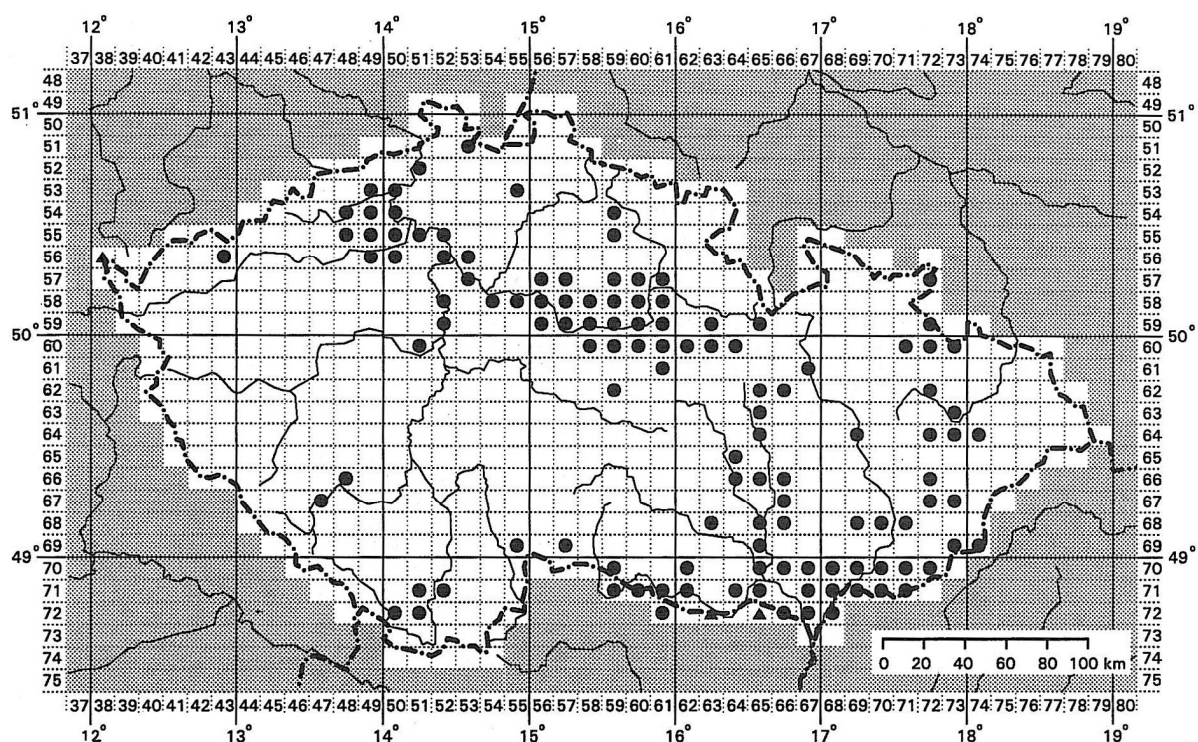
Obr. 2: Rozšíření *Libanotis montana* ve světě (tmavá kostkovaná plocha). (Převzato z Meusel et al., 1978a).

Libanotis pyrenaica můžeme nalézt téměř po celé pevninské Evropě. Na severu zasahuje na jihovýchod Anglie (Sell & Murrell, 2009) a do jižní části Skandinávie (Hultén, 1950); na západě do Francie (www1); na jih na Apeninský a Balkánský poloostrov. Na východ proniká do Karpat (západo-středoevropský taxon, *Libanotis pyrenaica* v úzkém pojetí) nebo až na střední Sibiř (Slavík & Tomšovic, 1997), do Mongolska (Bobrov et al., 1973) a západní Číny (Peschkova, 2006), podle pojetí jednotlivých taxonů. Dále na východ ji nahrazují jiné druhy (Uhrová, 1984).

Diploidní cytotyp je zřejmě rozšířen od západu na východ (Slavík & Tomšovic, 1997) – Španělsko (Pardo, 1981), Francie (Slavík & Tomšovic, 1997), Rakousko (Fischer et al., 2008), Bulharsko, Polsko (Slavík & Tomšovic, 1997), Sibiř (Peschkova, 2006).

Tetraploidní cytotyp byl zatím zjištěn jen u nás (viz 4.4), v Rakousku (Vitek et al., 1992) a v Bělorusku (Semerenko, 1985). O přesnějším rozšíření a odlišnosti cytotypů se literatura zatím nezmiňuje, k lepšímu poznání tedy bude nutný další výzkum.

3.4.2 Rozšíření *Libanotis pyrenaica* v ČR



Obr. 3. Rozšíření *Libanotis pyrenaica* v České republice (podle Slavík & Tomšovic, 1997).

Rozšířením *Libanotis pyrenaica* v Československu se ve své diplomové práci podrobně zabývala Uhrová (1984), další informace lze nalézt v Květeně ČR (Slavík & Tomšovic, 1997),

Libanotis pyrenaica roste, jak již bylo nastíněno, na bazickém podloží, zejména vápencovém, a vyhledává oblasti s teplým sušším klimatem. V Čechách klesá frekvence jejího výskytu od východu na západ.

Častější se zdá být v Polabí (viz obr. 3), hlavně pak v Pardubicích, Chvaleticích nebo u Hradce Králové (Uhrová, 1984). V jižních Čechách je omezena na výstupy vápenců – roste na sušicko-horažďovických vápencích na zříceninách hradů Prácheň a Rábí (Vaněček, 1969) a Českokrumlovsku (Vyšenské kopce) – a na několik málo dalších lokalitách. Jen o málo hojnější je na západě, kde ji nalézáme při horním toku Ohře (Uhrová, 1984), více lokalit je

pak v severozápadních Čechách, v Českém středohoří. Ojedinělé lokality jsou v Českém krasu a na území Prahy (např. v Hodkovičkách) (Uhrová, 1984). Ze severních Čech je několik pravděpodobně zčásti ne zcela spolehlivých údajů (Uhrová, 1984).

Na Moravě je *Libanotis pyrenaica* hojnější než v Čechách. Vyskytuje se v okolí Znojma, Mohelna, Brna, u Tišnova, na Pálavských vrších, v Jihomoravské pahorkatině, Moravském krasu, v Bílých Karpatech, dále na sever už pouze vzácně v povodí Svatky, v Hornomoravském úvalu, v okolí Olomouce a Štramberka a ve Slezské nížině (Uhrová, 1984; Slavík & Tomšovic, 1997).

Zatímco v některých územích se *Libanotis pyrenaica* vyskytuje na více či méně přirozených stanovištích (travnaté či křovinaté stráně, skály, lesní lemy, sutě), jinde je nalézána na antropicky podmíněných stanovištích. Mezi ně patří například železniční tratě – šíří se podél kolejí např. mezi Pardubicemi a Hradcem Králové (Slavík & Tomšovic, 1997), navigace (zejména kamenné) řek, např. Labe, Sázava, Ohře, kamenolomy – možná Český kras; štěrk, násypky, cesty – např. nález v Muckově (Uhrová, 1984). Dále se její druhotný výskyt dá předpokládat v okolí hradů a na zříceninách (v místech, kde není jinak hojná) – Loket, hrad Kynšperk nad Ohří, zřícenina Cvilínu u Krnova (Uhrová, 1984).

Nejvíce druhotných lokalit se zřejmě vyskytuje ve východních Čechách (Slavík & Tomšovic, 1997).

Za primární výskyt lze podle Slavíka (Slavík & Tomšovic, 1997) považovat České středohoří, Českokrumlovsko, Moravský kras, Podyjí, Pomoraví, Moravskou bránu a Opavsko. Pokud by tato premisa byla správná, bylo by možné říci, že u nás jsou původní obě ploidní úrovně. Zajímavé je, že podle současných znalostí se zdá být diploidní *Libanotis pyrenaica* rozšířenější než tetraploidní v celém svém areálu výskytu kromě Česka. Druhou možností by bylo, že by se pouze výskyty tetraploidních jedinců ve zbylých státech zatím přehlížely (viz 3.4.1 a 4.4).

3.4.3 Rozšíření *Libanotis* v sousedních zemích

3.4.3.1 Slovensko

Na Slovensku se setkáváme s *Libanotis pyrenaica* subsp. *bipinnata* (tj. *Seseli libanotis* subsp. *libanotis*) a *Libanotis pyrenaica* subsp. *intermedia* (Hlavaček et al., 1984).

Libanotis pyrenaica subsp. *bipinnata* roste v panonské části – zejména Burda a Košická kotlina; hojně se nalézá v karpatské oblasti (Hlavaček et al., 1984), zjištěný počet chromozomů je $2n = 22$ (Májovský et al., 1970).

Flóra Slovenska (Hlavaček et al., 1984) se ale nezmiňuje o chromozomových počtech *Libanotis pyrenaica* subsp. *intermedia* a její rozšíření dle literatury není dostatečně prozkoumáno [jen mapka se čtyřmi lokalitami ve Flóře Slovenska a zmínka v Dostálově květeně (Dostál, 1950) o jejím výskytu v Pieninách].

Celkově je zdejší výskyt *Libanotis pyrenaica* rovnoměrnější než v Česku a to zejména díky rozsáhlému zastoupení vápencového a dolomitového podloží. Je známa z Bratislavy a okolí, Malých Karpat, části Podunajské nížiny, z Bílých Karpat, okolí Hlohovce, Tematínských kopců, Strážovské hornatiny a dále na východ z Kriváňské Malé Fatry, Velké Fatry, Chočských vrchů, Liptovské kotliny, Nízkých Tater, Belanských Tater, Pienin, Muráňské planiny, Slovenského ráje, Spišské kotliny, Braniska a Čerchovského pohorí, na jihu roste zejména ve Slovenském krasu a na několika ojedinělých lokalitách (Uhrová, 1984 ; Hlavaček et al., 1984). Chybí jen v části Podunajské nížiny, v Ipeľské pahorkatině, ve Slánských vrších, v části Východních Beskyd a v Potiské nížině (Uhrová, 1984).

3.4.3.2 Rakousko

V Rakousku se v současnosti rozlišuje *Seseli libanotis* subsp. *libanotis* vzrůstem asi do 50 cm a větší *Seseli libanotis* subsp. *intermedium* (Fischer et al., 2008) (viz 3.2).

Seseli libanotis subsp. *libanotis* se vyskytuje v montánním, subalpínském a alpském pásmu, od severu na jihozápad (spolkové země Dolní Rakousy, Horní Rakousy, Štýrsko, Korutany, Salcbursko, Tyrolsko) až do italského Jižního Tyrolska (Trentino-Alto Adige). Autoři rakouského klíče se domnívají, že se jedná o diploidní cytotyp.

Na rozdíl od něj *Seseli libanotis* subsp. *intermedium* roste na severozápadě Rakouska a snad by se mohlo jednat o tetraploida (Fischer et al., 2008). Tato subspecie podle literárních pramenů ještě na konci 80. let nebyla v Rakousku odlišována (Vitek et al., 1992), což potvrzují i starší rakouské klíče (Fischer et al., 1994).

3.4.3.3 Německo

Výskyt *Libanotis pyrenaica* v Německu popisuje Rothmaler (Rothmaler et al., 1984; Rothmaler et al., 1994) – žebřice je roztroušená od jihu na sever až do severního Westfálska, Hesenska, Duryňska, Saska-Anhaltska a Vogtlandu. *Libanotis* je celkově častější na jihu země, podél toků, na horách a na severu při pobřeží (Schönfelder & Haeupler, 1988; Schönfelder & Bresinsky, 1990; Benkert et al., 1996 – též mapy).

V Německu se podle Rothmalera (Rothmaler et al., 1994) vyskytuje jen subsp. *montana* ($2n = 22$). Podrobně vypracované, i když už možná poněkud zastaralé, je rozšíření ve Flora von Mittel-Europa (Hegi, 1927).

3.4.3.4 Polsko

Libanotis pyrenaica roste roztroušeně po celém území, nejvíce podél toku Visly, v centrální části Polska je spíše vzácnější (mapa viz Zajac & Zajac, 2001).

V polské flóře (Pawłowski et al., 1960) jsou odlišovány dva druhy, *Libanotis montana* a *Libanotis sibirica*. První roste zejména v nížinách v podhůří Sudet, v Tatrách do nadmořské výšky 1 643 m. Druhý zejména na východě v údolí Visly, také na horách – v Pieninách. Stejného pojetí se přidržuje i současný polský checklist (Mirek et al. 2002).

3.4.4 Rozšíření ve zbytku Evropy

3.4.4.1 Skandinávie, Finsko

Libanotis pyrenaica je vázána na podloží s vápencem (často šterková nebo promísená s pískem). Vyskytuje se na mnoha lokalitách na jihu Dánska (Stern, 1922, mapa tamtéž), ve Švédsku je nejhojnější na jihozápadě země v takzvaném severním Götalandu a na východě Svealandu, to jest přibližně v oblasti, kde leží Stockholm, Upsala aj. Nalézají se též na přilehlých ostrovech (Öland, Gotland) (Hultén, 1950, mapa; Ericsson, 2004; Fröberg, L., 2008 – www.2). Na nejjižnější části země však chybí (Stern, 1922). V Norsku je známa jižně od Osla, ve Finsku na jihovýchodě (Hultén, 1950).

(Zdejší žebřice mají chlupaté plody, ne lysé, navíc získávají díky variabilitě někteří jedinci narůžovělý odstín okvětních lístků, což připomíná *L. sibiricum*. Ta by se ale měla vyskytovat na Sibiři a některými autory není ani tento taxon odlišován od *Seseli libanotis* (viz 3.2) (www 2.) .

Ve Finsku se *Libanotis* často vyskytuje na prehistorických obydlích a pohřebištích (Fröberg, L., 2008 – www.2, vč.mapy), což se podobá zvláštnímu habitatu žebřice pyrenejské na zříceninách v Čechách. Logicky se to dá opět vysvětlit větším obsahem vápníku v půdě.

3.4.4.2 Britské ostrovy

Zřejmě jen na jihojihovýchodě země (Meusel et al., 1978a): Sussex, Hertfordshire, Cambridgeshire, Bedfordshire (Sell & Murrell, 2009); uváděny jsou počty chromozomů $2n = 18$ a $2n = 22$ (Sell & Murrell 2009).

3.4.4.3 Francie

Ve Francii žebřice roste téměř všude, zejména na severu a východě země (Meusel et al., 1978a; www1). V Bretani a na pobřeží jen málo, dost ve Vogézách a Juře, velmi vzácná je ve Francouzském středohoří (v Aveyron) a na několika lokalitách v Alpách (Bonnier, 1911).

3.4.4.4 Pyrenejský poloostrov

Kupodivu na rozdíl od ostatních květen Flora Iberica udává, že *Seseli libanotis* roste na všech typech substrátů. Lze ji nalézt od nížin do 2 000 m n. m. I zde se nacházejí jak rostliny lysé tak chlupaté (www 6.)

Ze Španělska jsou uváděni diploidi $2n = 22$ (Pardo, 1981) stejně jako z celého Pyrenejského poloostrova (www 6.).

3.4.4.5 Jižní Evropa

Libanotis pyrenaica roste též na jihu Evropy – v Itálii zejména v Alpách a Apeninách (Pignatti, 1982), na Balkánském poloostrově, krom nejjižnějších částí (Meusel et al., 1978a).

3.4.4.6 Rusko

Na území bývalého Sovětského svazu jsou rozlišovány druhy *Libanotis intermedia*, *Libanotis setifera*, *L. monstrosa*, *L. dolichostyla*, *L. sibirica*, *L. montana*, *L. buchtormensis*, *L. seseloides*, *L. schrenkiana*, *L. amurensis*, *L. transcaucasica* (Bobrov et al., 1973), z nichž jsou středoevropským rostlinám nejbližší (nebo snad i totožné) *L. intermedia* a *L. sibirica*. *Libanotis intermedia* je uváděna z téměř celé evropské části a ze Sibiře, *Libanotis sibirica* roste v jehličnatých a smíšených lesích, na mýtinách a na svazích s vápencovým podložím na středním a jižním Uralu a v Baškirii. Ve Flóře Sibiře je rozeznávána *Libanotis* jakožto *Seseli libanotis* a žádné nižší úrovně se v knize ohledně zmíněného taxonu nevyskytují (Peschkova, 2006). Z Ruska jsou známy diploidní ($2n = 22$) rostliny (např. Peschkova, 2006).

3.4.4.7 Bělorusko

Z Běloruska je uváděn tetraploidní cytotyp (Semerenko, 1985). Přesnější rozšíření se mi však nepodařilo dohledat.

3.4.4.8 Rumunsko

Flóra Rumunska (Săvulescu, 1958) uvádí více variant žebřic. V současnosti se ale zde rozeznávají dva poddruhy a to *Seseli libanotis* ssp. *libanotis*, který se vyskytuje v téměř celé zemi, záznamy chybí jen z regionu Dobrogea a *Seseli libanotis* ssp. *intermedium* z Bicazké soutěsky, z pohoří Mehedinți, Gilau-Muntele Mare, Rodny, Retězatu a z okolí měst Sibiu, Bačau (Oprea, 2005).

3.4.4.9 Ukrajina

Ukrajinská literatura rozlišuje horský (karpatský) druh *Libanotis montana* a spíše nížinný druh *L. intermedia* (Dobročaeva et al. 1987).

3.4.4.10 Bulharsko

Flóra Bulharska se o existenci žebřice zmiňuje, popisuje však jen její rozšíření celkově bez udání bližších lokalit (Jordanov & Kožuharov, 1982). Tamní populace jsou zřejmě diploidní (viz příloha 1).

4. Polyploidie

Polyploidie je přítomnost tří či více kompletních chromozomových sad v jádru buněk (Comai, 2005).

Soltis & Soltis (1999) se domnívají, že frekvence polyploidů je u krytosemenných rostlin až 70 % a dokonce 95 % u kaprad'orostů. Otto & Whitton (2000) ji u rostlin kladou obecně do rozmezí 30 až 80 %. Navíc se zdá, že v minulosti prošly polyploidizací všechny krytosemenné rostliny, snad pouze s výjimkou rodu *Amborella* (*Amborellaceae*), sesterské skupiny krytosemenných rostlin (Soltis et al., 2009).

Vznik polyploidů je nejčastěji spojen s tvorbou neredukovaných samčích nebo samičích gamet u diploidních rostlin; jejich uváděná frekvence je ca 0,56 %, příčinou jejich vzniku můžou být meiotické poruchy nebo i vnější faktory (stres, teplotní výkyvy apod.), frekvence často výrazně meziročně kolísá (Levin, 2002). Polyploidizace přitom může být oboustranná (splynutí neredukované samčí a neredukované samičí gamety) nebo jednostranná ($2n + n$ gamety). Druhý případ je často označován jako triploidní most (triploid bridge, Husband, 2004); z triploidních rostlin pak mohou dalším křížením vznikat tetraploidi. Mnohem méně častým způsobem vzniku polyploidů je somatická polyploidizace, např. duplikací chromozomů v raném stádiu zygoty (Mráz, 2012).

Podle způsobu vzniku je možné polyploidy rozdělit na autopolyploidy a alopolyploidy (Ramsey & Schemske, 1998). Autopolyploid vzniká v rámci jednoho druhu, ekotypu či jedné populace (Ramsey & Schemske, 1998). Typická je pro něj velká podobnost mezi chromozomovými sadami, vedoucí k tvorbě multivalentů. Na rozdíl od něj alopolyploid kombinuje dva a více rozdílných genomů, obvykle dochází k výměně úseků s genetickou informací jen mezi homologickými chromozomovými sadami, multivalenty se obvykle netvoří (Ramsey & Schemske, 1998).

Zastoupení polyploidů obecně stoupá s rostoucí zeměpisnou šířkou (na severní polokouli) a v některých územích i se stoupající nadmořskou výškou (Otto & Whitton, 2000). Předpokládá se totiž, že výkyvy prostředí mohou podporovat tvorbu neredukovaných gamet (Mable, 2004). Větší heterozygotita může být výhodou v časoprostorově nestálých podmínkách vnějšího prostředí. V důsledku mají polyploidi širší toleranci k výkyvům prostředí (Otto & Whitton, 2000). Soudí se, že polyploidi obecně musí mít větší buňky (Jovtchev et al., 2006). To může zapříčinit vznik silnějších kořenů (a lepší uchycení rostliny), celkově větší vzrůst (a v jeho důsledku zastínění okolí) nebo větší velikost semen (Otto & Whitton, 2000; Knight et al., 2005), která může dát vznik zdatnějším semenáčkům. Ty ale obvykle klíčí později než jejich diploidní příbuzní (Levin, 1983) a také pomaleji rostou (Levin, 2002).

4.1 Rozdílnost mezi cytotypy v rámci jednoho druhu

Každý taxon bývá charakterizován jedinou ploidní úrovní (Suda, 2011), ale známy jsou též druhy a poddruhy s více různými cytotypy. Nejběžnější jsou zřejmě diploidi s tetraploidy (např. *Cardamine amara*, *Galium valdepiosum*, *Knautia arvensis* subsp. *serpentinicola*, *Potentilla heptaphylla* a další mochny, ...), některé druhy tvoří také triploidy, jež se podle současných názorů mohou velkou mírou podílet na fixaci polyploidů v populaci. Méně často se setkáváme i s jinými ploidními kombinacemi (Suda, 2011).

Poslední dobou se často zkoumá, jestli a jak se od sebe jednotlivé cytotypy liší. Mezi často zmiňované odlišnosti přicházejí jejich rozdílné ekologické nároky, morfologie či fyziologie. Obecně lze říci, že diploidi vyhledávají odlišná stanoviště než polyploidi, čímž dobře odrážejí prostorovou heterogenitu prostředí (Otto & Whitton, 2000; Hanzl, 2010).

Distribuce cytotypů může záviset i na dřívějších podmínkách, na jejichž změnu ještě nestihli zareagovat. Při hledání odlišností se občas naráží též na prostorové měřítko. Určité rozdíly u jednoho druhu mohou být zřejmé již na mikrostanovišti, u jiného druhu bychom je tam hledali marně, až kdybychom postoupili na vyšší úroveň, třeba regionální, našli bychom je tam s největší pravděpodobností také (Hanzl, 2010). Příkladem může být třeba pryskyřník *Ranunculus adoneus* (*Ranunculaceae*) (Baack, 2004) nebo mikroprostorová segregace cytotypů chrpy *Centaurea stoebe* (*Asteraceae*), u níž se tetraploidi vyskytovali zejména na místech antropogenně disturbovaných (př. lomy, okraje cest) a diploidi i v zapojených suchých trávnících (Mráz et al., 2011).

Jiné odlišné fyziologické potřeby se mohou krásně odrazit v samotné geografické distribuci, kdy oba cytotypy vyhledávají jiné stanovištní podmínky třeba jen kvůli jiné míře tolerance k určitým prvkům. Například tetraploid zlatobýlu *Solidago gigantea* (Asteraceae) vykazuje toleranci k vápníku, na rozdíl od jeho diploidního cytotypu (Schlaepfer et al., 2010). Může se tedy jednat o odlišnosti mezi cytotypy na základě množství živin (např. množství dusíku, o němž se soudí, že polyploidi ho potřebují více kvůli většímu množství aminokyselin), odlišných potřeb světla a jiných fyziologických vlastností.

Cytotypy tedy mohou být charakteristické pro určité typy prostředí, což bylo odhaleno u metlice *Deschampsia cespitosa* (Poaceae), kdy ve Velké Británii lze nalézt diploidní rostliny zejména ve starších lesích přirozeného původu, na rozdíl od tetraploidních, které jsou rozšířeny v uměle vysazených lesních porostech, na loukách, pastvinách, plantážích nebo při krajnicích (Rothera & Davy, 1986). Stejně tak i tetraploid srhy *Dactylis glomerata* (Poaceae) se vyskytuje zejména v antropicky narušených místech s bylinnou vegetací, ač její diploid se nalézá obvykle v doubravách. Tetraploidi měli navíc kratší a dřívější kvetení než diploidi, kteří vykvétali o několik týdnů později a kvetli tak v období sucha (Lumaret et al., 1987). Také se zkoumal rozdíl ve společenstvech, kde rostou diploidi a tetraploidi *Galax urceolata* (Diapensiaceae). Bylo zjištěno, že ačkoliv se na stanovištích nelišilo množství druhů, byly výrazně jinak zastoupené – diploidi se nacházeli v místech s větším zápojem keřů a stromů, zatímco tetraploidi v oblastech s bohatým bylinným patrem (Johnson et al., 2003). Ovšem existují i studie dokazující, že mezi cytotypy rozdíly v jejich biotopech nejsou. Tak je tomu třeba u zlatobýlu *Solidago altissima* (Halverson et al., 2008).

Solidago gigantea (Asteraceae) se vyskytuje v Severní Americe ve třech ploidních úrovních – diploid, tetraploid a hexaploid. Schlaepfer a jeho tým zjišťovali, v čem všem se diploidní rostliny od tetraploidních liší. Nakonec došli k závěru, že diploid byl větší jen v první sezoně. Rychleji rostl, protože biomasu ukládal nejvíce do výhonků, bylo u něj naměřeno více dusíku v listech, na stranu druhou se ale nejevil příliš životaschopným. Na rozdíl od něj tetraploid byl prokázán jako dlouhověký, měl dobře vyvinutý kořenový systém a širší ekologickou niku – díky toleranci k vápníku. Celkově tedy byl tetraploid shledán snadněji šířitelným až invazním. (Schlaepfer et al., 2010).

Diploidi vrbovky *Epilobium* (Chamerion) *angustifolium* (Onagraceae) se vyskytují ve vyšších nadmořských výškách než tetraploidi, jak dokazuje i průzkum z kontaktních zón ve Skalistých horách (Husband & Schemske, 1998).

V rámci chrp *Centaurea phrygia* (Asteraceae) lze rozlišit diploidní i tetraploidní jedince, kteří se liší nejenom areálem (tetraploid se vyskytuje jen v Západních Karpatech,

Hrubém Jeseníku a několika přilehlých lokalitách) ale i morfologicky (délkou chmýru, zákrovem) (Koutecký et al., 2012).

Ačkoliv již několikrát byl diskutován jiný vzhled a vlastnosti na základě ploidie, existují práce, které varují před zaslepenými závěry jen na základě odlišného množství chromozomových sad. Přicházejí s důkazy, že rostliny s různou ploidí si mohou být podobnější než ty se stejnou, ale s jiným geografickým rozšířením (Bastlová et al., 2008), upozorňují tedy na fenotypovou plasticitu jednotlivých rostlin.

4.2 Ploidně smíšené populace

Může se stát, že v diploidní populaci vznikne polyploidní jedinec (viz 4.4). Potom závisí na mnoha okolnostech, zda-li se uchytí či nikoliv (Hanzl, 2010).

Dříve byly smíšené populace obvykle přehlížené (Keeler & Davis, 1999), a to mj. kvůli náročným karyologickým způsobům určování ploidie, což se změnilo až se vstupem průtokové cytometrie do běžného užívání v botanice. Dnes jsou nalézány stále nové lokality, kde se cytotypy vyskytují pospolu.

Zatím není jasné, jak časté ploidně smíšené populace jsou, jen se dokazuje, že jsou běžnější, než se předpokládalo (Keeler & Davis, 1999). V České republice byly ploidně smíšené populace zjištěny např. u *Pimpinella saxifraga* (*Apiaceae*) (Mozolová, 2007), *Pilosella echinoides* (Trávníček et al., 2011a), *Gymnadenia conopsea* (Trávníček et al., 2011b), nebo u *Knautia arvensis* (*Dipsacaceae*) (Kolář et al., 2008). Vznik ploidně smíšené populace může souviset buď se sekundárním kontaktem dvou stabilizovaných cytotypů (sekundární kontaktní zóna, např. u již zmíněné *Knautia arvensis*) nebo se vznikem polyploidních rostlin v diploidních populacích (fúze 2 neredukovaných gamet nebo redukované a neredukované gamety). Zejména ve druhém případě může být koexistence ploidí jen dočasná (minority cytotype exclusion), ale polyploidie se mohou stabilizovat a šířit na základě jejich reprodukčních bariér, jiných nároků na prostředí atp. (Begon et al., 2002; Levin, 2002).

4.3 Velikost genomu

Velikost genomu představuje obsah DNA v jádře, udává se v pikogramech (pg) nebo megapárech bází (1pg odpovídá 978 Mbp) (Suda, 2011). Reprezentuje ho tzv. C-value, tedy množství jaderné DNA nereplikované gametické buňky, a to bez ohledu na ploidii, tedy jinými slovy holoploidní velikost genomu (Greilhubert et al., 2005), nebo Cx-value (množství jaderné DNA monoploidní sady chromozomů) (Suda, 2011).

Pomocí této C-hodnoty lze označit genom buňky za haploidní (1C) nebo diploidní (2C). 1Cx naopak představuje průměrnou velikost jedné monoploidní chromozomové sádky, 2Cx vyjadřuje obsah DNA v nereplikovaném jádře somatické buňky diploidního organismu (Greilhubert et al., 2005; Suda, 2011). C-value a Cx-value bývají u diploidů stejné (Greilhubert et al., 2005), u polyploidů je ale C-value větší. (Cx se získá jako podíl 2C-value a stupně ploidie) (Suda, 2011).

Velikost genomu nám pomáhá odhalovat polyploidy a hybridy, umožňuje bližší poznání molekulární biologie, souvisí s ekologickými, fenologickými či morfologickými podmínkami.

4.4 Ploidie *Libanotis pyrenaica*

V České republice byly zjištěny diploidní i tetraploidní jedinci. Přesnější rozšíření obou cytotypů ale není známo, diploidi byli ověřeni na vápencových ostrůvcích v jižních a jihozápadních Čechách (Sušicko-horažďovické vápence a Českokrumlovsko), tetraploidi ve středním a východním Polabí a na jižní Moravě. Počet zkoumaných rostlin byl ale doposud malý (Slavík & Tomšovic, 1997). Není tedy zatím jisté, zda se u nás vyskytuje kontaktní zóna (zóny) a vznikají ploidně smíšené populace. Případná kontaktní zóna by byla zajímavá zejména s ohledem na možné křížení diploidů a tetraploidů a vznik triploidních rostlin (ty jsou uváděny ze Slovenska, viz Slavík & Tomšovic (1997). Ani kontakt obou ploidí ale nemusí být zárukou vzniku triploidů, jak ukazuje např. nedávný cytogeografický screening vikve *Vicia cracca* (Fabaceae) ve střední Evropě, kdy diploidi se nacházeli ve východní a tetraploidi v západní části. Při tomto bádání bylo zjištěno po prozkoumání 6 500 jedinců pouze 7 triploidů a to v diploidní populaci. Takto malé zastoupení triploidů může být důkazem velmi účinných reprodukčních bariér (Trávníček et al., 2010), které by mohly přicházet v úvahu i v případě *Libanotis pyrenaica*.

O evoluční a migrační historii obou ploidí není zatím možné říci téměř nic. Bylo by například možné, že by diploid byl u nás původní a tetraploid se šířil až v novější době (tetraploidi jsou obecně považováni za invazivnější cytotyp, viz Schlaepfer et al., 2010) např. podél toků řek (Polabí), podél silnic a železnic. Navíc jsou známy výskyty na hradních zříceninách (viz 3.4.2), které mohou být pozůstatkem pěstování, ale i výsledkem dálkového šíření. Odkud ale zůstává záhadou. Možné by bylo, že by tetraploidní populace vznikla třeba na jihu Moravy, kde by postupně vytlačila původní diploidní cytotyp a sama se pak začala šířit (viz 3.4.2), to ale nelze bez znalosti ploidní struktury v sousedním Rakousku a na Slovensku ani potvrdit, ani vyvrátit. Sušicko-horažďovické vápence na jihu Čech a Český

Krumlov s okolím by pak hostily původní diploidní cytotyp, k němuž se tetraploid zatím neměl možnost dostat.

V rámci literární rešerše jsem vytvořila tabulku s chromozomovými počty *Libanotis pyrenaica* a s citacemi umístěnou v přílohách.

5. Průtoková cytometrie

Průtoková cytometrie (flow cytometry, zkratka FCM) je cytogenetická metoda umožňující rychle (v rámci minut) kvantitativně analyzovat velké množství jednotlivých částic v suspenzi. Dlouhá léta to pro využití na rostlinách byl problém (Doležel et al., 2007a), zpočátku řešený například lyzováním protoplastů, než přišel nový a snadný způsob osamostatnění jader (viz 6.1).

Po vložení připraveného vzorku do cytometru dochází k vlastnímu měření: Částice se v procesu zvaném hydrodynamická fokusace seřadí po jedné za sebou. Unášecí kapalina (nejčastěji destilovaná voda nebo roztok solí) je do relativně široké průtokové komůrky hnána pod větším tlakem, než samotná suspenze částic, čímž dochází k jejich uspořádanosti a následně procházejí paprskem excitačního záření (Suda, 2011).

Pro excitaci fluorescenčního barviva navázaného na částice již během přípravy (viz 6.1) slouží lasery, diody anebo, spíše v minulosti, vysokotlaké rtuťové výbojky. Poté se barvivo vrací do původního energetického stavu za vyzáření světla o vyšší vlnové délce, a tepla. Fluorescence je následně zachycena optickou soustavou – filtry a zrcadly – a konečně převáděna za pomoci fotonásobičů a zesilovačů na elektronický signál, jenž je zpracováván počítačem (Suda, 2011).

5.1 Klady a zápory průtokové cytometrie

Průtoková cytometrie se v současnosti dostává do velké obliby botaniků. Je to způsobeno mj. mnoha jejími výhodami, například jednoduchou přípravou vzorků, rychlostí, poměrně nízkou finanční nákladností analýz a nedestruktivností, neboť na analýzu stačí velice malý kousek rostliny (Suda, 2011). Díky tomu lze lépe poznat i rostliny vzácné či chráněné, nebo dokonce mladé semenáčky, aniž by došlo k jejich usmrcení. Kvalitní výsledky měření se navíc dostávají nejen z části listu, ale i stonku, kořene, květu... (Loureiro et al., 2010)

FCM se používá též na semena, za účelem získání přehledu o jejich cytotypech, ovšem o životaschopnosti budoucích semenáčků již nic neříká, proto se musí k následným výsledkům přicházet poněkud kriticky.

Naproti jiným karyologickým metodám může být rostlinná tkáň pro analýzu průtokovou cytometrií mitoticky neaktivní (Loureiro et al., 2010). Riziko nastává jen u příliš mladých pletiv, kde se hodně jader nachází v G2 nebo S fázi. V takovém případě může dojít ke špatné interpretaci naměřeného (Suda, 2011). Klasická cytometrie také nedokáže vyřešit otázku, kolik částic skutečně komůrkou projde. Nemusí totiž správně odlišit jestli prošla jedna velká či více malých.

Pro tvorbu kvalitních výsledků mohou být překážkou také vysoké hladiny sekundárních metabolitů v pletivech (Suda, 2011), které ovlivňují vazbu fluorescenčních barviv na dvoušroubovici DNA. Touto vlastností se projevují zejména taniny (Loureiro et al., 2006). Dalšími ztěžujícími faktory jsou CAM metabolismus snižující pH měřené suspenze, nebo vysoký obsah slizových látek. (Suda, 2011)

Složitou se může stát třeba i pouhá potřeba analyzovat čerstvé vzorky, protože vadnoucí poskytují méně kvalitní histogramy (Suda, 2011), jak jsem se koneckonců přesvědčila i na základě vlastního pozorování po odebrání částí listů z odumírající rostliny v pozdním listopadu.

Ne vždy, ale někdy lze úspěšně testovat i herbářové položky, nebo vzorky usušené v silikagelu, z nichž je možné získat kvalitní histogramy někdy i po třech letech (Suda & Trávníček, 2006).

6. Praktická část – zkoumání žebřice

Pokusila jsem se seřadit všechny dostupné informace o chromozomových počtech žebřice. Samozřejmě mi některé mohly uniknout. Tabulka se zjištěnými lokalitami a počty je umístěna v přílohách (viz příloha 1).

Celkově byly u *Libanotis pyrenaica* nejčastěji vypočteny hodnoty $2n = 22$, řidčeji $2n = 44$. Slavík & Tomšovic (1997) uvádějí ještě triploida s počtem $2n = 33$.

Kromě těchto chromozomových počtů ale literatura uvádí i nižší a to počet $2n = 18$ a $2n = 20$.

Pro bakalářskou práci jsem ověřila existenci obou cytotypů *Libanotis pyrenaica* v Čechách na cytometru. Poblíž křovisek při okraji přírodní rezervace Mydlovarský luh a zároveň na nezastíněném trávníku jsem našla několik jedinců (labské navigace mezi cestou a lesem, malá populace, GPS souřadnice 50°10'2.174"N, 14°54'31.432"E a 50°10'5.930"N, 14°54'26.119"E). Sebrala jsem dvě rostliny pro vytvoření herbářové položky a několik lístků z pěti různých jedinců pro analýzu na cytometru.

Další histogram (obr. 4B) je získán stejným způsobem (viz 6.1), ale rostliny pocházely z jiné lokality – z trávníku na okraji chodníku u Prokešovy zahrady v Českém Krumlově (GPS souřadnice 48°49'2.244"N, 14°18'51.694"E).

6.1 Příprava vzorků

V laboratoři průtokové cytometrie na Katedře botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze jsem v rámci pilotních analýz postupovala standardním dvoukrokovým postupem (Doležel et al., 2007b). Přibližně 0,5 cm² listu *Libanotis pyrenaica* spolu s interním standardem *Bellis perennis* jsem rozsekala pomocí žiletky ve vychlazeném pufru Otto I. na Petriho misce.

Suspenzi jsem pak přefiltrovala (filtr s průměrem ok 42 mikrometrů) do kyvety. Přidala jsem fluorescenční barvivo DAPI (4',6-diamidino-2-fenylindol) rozpuštěné v pufru Otto II spolu s merkaptotetanolem, nechala 1-3 min inkubovat. Následovala vlastní analýza pomocí cytometru Partec ML.

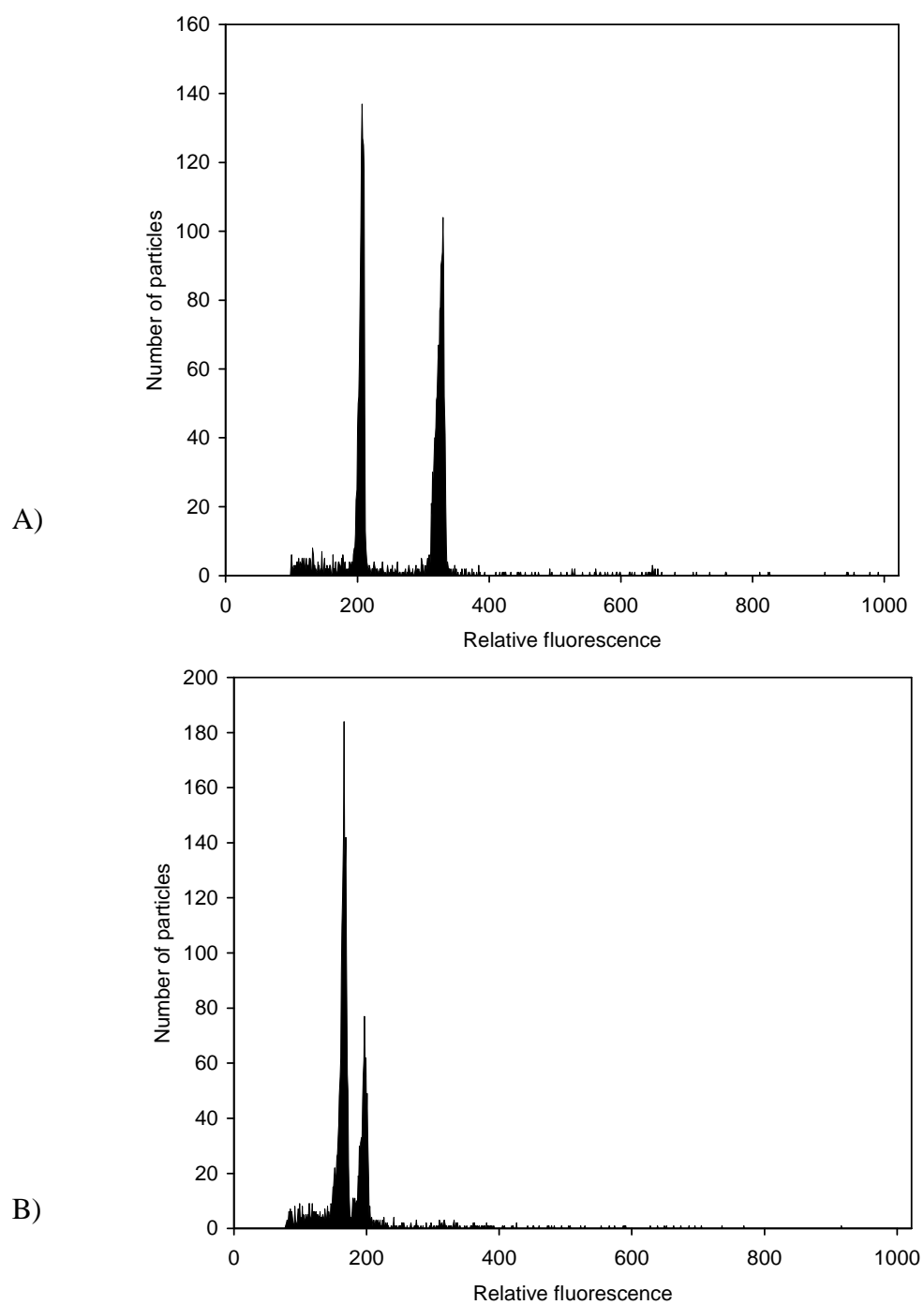
Získané histogramy (obr. 4 A a B) byly dále zpracovány užitím programu Partec FloMax.

6.2 Výsledky

Pilotní analýza potvrdila informace z literatury o dvou ploidních úrovních *Libanotis pyrenaica* v Čechách (viz 4.4).

Můžeme také říci, že diploidní jedinci byli potvrzeni z Českého Krumlova (obr. 4B), zatímco tetraploidní cytotyp pocházel z Polabí (obr. 4A). Naše pokusné měření odpovídá tvrzením v Květeně České republiky (Slavík & Tomšovic, 1997).

Při měření vzorků se podařilo získat nízké hodnoty variačního koeficientu (CV) u *Libanotis* z Mydlovaru 1,73 %, pro *Bellis* 1,65 %. Při analýze rostlin z Českého Krumlova bylo CV již kolem 2,5 %, tedy stále pod 3 %, což je požadováno z důvodu přesnosti analýz.



Obr. 4 Výsledné histogramy z průtokového cytometru. Pík buněk v G1 fázi standardu *Bellis perennis* (*Asteraceae*) je umístěn na 200 na ose x (znázorňující relativní intenzitu fluorescence).

- A) Je porovnáván s tetraploidní *Libanotis pyrenaica* (*Apiaceae*) (pík v tomto případě leží za ním).
 B) Ověření existence diploidní *Libanotis pyrenaica* (*Apiaceae*) (pík v tomto případě leží před píkem *Bellis perennis*).

7. Otázky kladené do navazující magisterské práce

U *Libanotis pyrenaica* se domníváme na základě její velké morfologické variability, že cytotypy nebudou morfologicky odhalitelné, ale dalším zkoumáním bychom si tuto myšlenku rádi ověřili.

Jestli a jak se její cytotypy liší by mělo být náplní navazující práce magisterské:

1. Určení ploidí a jejich rozšíření

- Plošný screening *Libanotis pyrenaica* v České republice doplněný o sběr ze sousedních zemí (zejména z příhraničních oblastí)
- Nalezení nebo vyvrácení existence smíšených populací.

2. Porovnání diploidních a tetraploidních cytotypů *Libanotis pyrenaica* v Česku

- Jak se od sebe morfologicky liší (existují znaky, které cytotypy odlišují?)
- Mají cytotypy jiné nároky na prostředí (např. zastíněnost, nadmořská výška, kompetice, ...)?
- Jaký je vztah mezi ploidí a typem stanoviště? Jsou tetraploidi vázáni na antropicky podmíněná stanoviště?
- Liší se oba cytotypy v biologických vlastnostech, jako je produkce semen, klíčivost semen, růstové parametry apod.?

V závislosti na finanční podpoře bude zváženo využití molekulárních markerů pro zjištění genetického patternu (cpDNA, podle možností další), zejména k objasnění způsobu vzniku (zřejmě polytopní) a migračních cest tetraploidního cytotypu.

8. Závěr

Libanotis pyrenaica je variabilní druh s doposud velmi málo poznanou ploidní diferenciací (diploidi, tetraploidi, snad i triploidi). Předložená práce shrnuje taxonomickou problematiku, rozšíření *Libanotis pyrenaica* v České republice a v dalších částech Evropy a poskytuje přehled doposud publikovaných chromozomových počtů. Těch je zatím málo, jde o údaje z České republiky, Slovenska, Polska, Rakouska, Francie, Španělska, Bulharska, Turecka, Běloruska a Ruska. Zatímco většina údajů mimo naše území se vztahuje k diploidnímu ($2n = 22$) cytotypu, v ČR podle dosavadních znalostí zřejmě převažují tetraploidní ($2n = 44$) populace. Otevřená je zatím i otázka vztahu mezi morfologickou proměnlivostí a ploidním stupněm, stejně jako mezi ploidním stupněm a ekologií – *Libanotis pyrenaica* se u nás vyskytuje jak na přirozených, tak i na sekundárních stanovištích, a možný vztah s ploidní úrovní není vyloučen. Do úvahy je potřeba brát i historické pěstování druhu a následné spontánní šíření do okolí.

9. Seznam použité literatury:

- Alexeeva, T. V., Vasil'eva, M. G., Daushkevich, J. V. & Pimenov, M. G. (1994):** IOPB chromosome data 8. – Int. Organ. Pl. Biosyst. Newslett. 23: 11–12.
- Baack, E. J. (2004):** Cytotype segregation on regional and microgeographic scales in show buttercups (*Ranunculus adoneus*: Ranunculaceae). – Amer. Journ. Bot. 91: 1783–1788.
- Bastlová, D., Květ, J., Kubátová, B., Trávníček, P., Čurn, V. & Suda, J. (2008):** Variabilita ve fenologii a ploidních hladinách původních a invazních populací kypřeje vrbice (*Lythrum salicaria*) v širším geografickém měřítku. – Zprávy Čes. Bot. Společ. 43, Mater. 23: 103–112.
- Begon, M., Townsend, C. R. & Harper, J. L. (2006):** Ecology: from individuals to ecosystems. Ed 4. – Blackwell Publishing, Oxford.
- Benkert, D., Fukarek F. & Korsch, H. (1996):** Verbreitungsatlas der Farn- und Blütenpflanzen Ostdeutschlands (Mecklenburg-Vorpommern, Brandenburg, Berlin, Sachsen-Anhalt, Sachsen, Thüringen). – G. Fischer, Jena.
- Bobrov, E. G., Fedchenko, B. A., Korovin, E. P., Krishtofovich, A. N., Linchevskii, L. A., Poyarkova, A. I. & Shishkin, B. K. [ed.] (1973):** Flora of the U.S.S.R.: (Flora SSSR). V. XVI. – Jerusalem. <http://archive.org/stream/floraofussr1617bota#page/240/mode/2up>
- Bonnier, G. (1911):** Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique: comprenant la plupart des plantes d'Europe. Vol. 4. – Delachaux et Niestlé, Neuchâtel,.
- Cauwet, A. M. (1968):** Contribution a l'étude caryologique des *Ombellifères* de la partie orientale des Pyrénées. – Natur. Monspel., ser, bot., 19: 5–27.
- Comai, L. (2005):** The advantages and disadvantages of being polyploid. – Nature reviews. Genetics 6: 836–846.
- Constance, L., Chuang, T.-L. & Bell, C.R. (1976):** Chromosome numbers in Umbelliferae V. – Amer. Journ. Bot. 63: 608–625.
- Danihelka, J., Chrtek, J. Jr. & Kaplan, Z. (2012):** Checklist of vascular plants of the Czech Republic (Seznam cévnatých rostlin květeny České republiky). – Preslia 84: 647–811.
- Dobročaeva, D. N., Kotov, M. I. , Prokudin, Ju. N. et al. (1987):** Opređelitel' vyššich rastenij Ukrainy. – Naukova Dumka, Kiev.
- Doğan Güner, E., Duman, H. & Pinar, N. M. (2011):** Pollen morphology of the genus *Seseli* L. (*Umbelliferae*) in Turkey. – Tübitak. Turk. Journ. Bot. 35 : 175–182.
- Doležel, J., Greilhubert, J. & Suda, J. (2007a):** Flow cytometry with plants: Analysis of genes, chromosomes and genomes, Wiley-VCH, Weinheim.
- Doležel, J., Greilhubert, J. & Suda, J. (2007b):** Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. – Nat. Prot. 2: 2233–2244.
- Dostál, J. (1950):** Květena ČSR a ilustrovaný klíč k určení všech cévnatých rostlin, na území Československa planě rostoucích nebo běžně pěstovaných. – Přírodovědecké nakladatelství, Praha.
- Dostál, J. (1958):** Klíč k úplné květeně ČSR. – Nakl. ČSAV, Praha.
- Dvořák, F. (1979)*:** Morphology of chromosomes of the genus *Seseli* L. – Scripta Fac. Sci. Nat. Univ. Purkyn. Brun. 1. 9: 19–42. [cit. sec. www 10]
- Dvořák, F. & Dadáková (1977):** IOPB chromosome numbers reports LVIII. – Taxon 26: 564–565
- Ericsson, S. (2004):** Arthandbok Fältkiktsarter för Nationell Inventering av Landskapet i Sverig. NILS. – Sveriges Lantbruksuniversitet Institutionen för skoglig resurshushållning och geomatik. Arbetsrapport 137: 48.

- Fischer, M. A., Adler, W. & Oswald, K. (1994):** Exkursionsflora für Österreich, Liechtenstein & Südtirol. – E. Ulmer, Stuttgart, Wien.
- Fischer, M. A., Oswald, K. & Adler, W. (2008):** Exkursionsflora für Österreich, Liechtenstein und Südtirol. Ed. 3. – Biologiezentrum der Oberösterreichischen Landesmuseen, Linz.
- Gardé, A. & Malheiros-Gardé, N. (1949)*:** Contribuição para o estudo cariológico da família *Umbelliferae*. – Agron. Lusit. 11(2): 91–140. [cit. sec. <http://www.anthos.es/index.php?lang=en>]
- Greilhubert, J., Doležal, J., Lysák, M. A. & Benett, M. D. (2005):** The Origin, Evolution and Proposed Stabilization of the Terms 'Genome Size' and 'C-Value' to Describe Nuclear DNA Contents. *Ann Bot* 95 (1): 255–260.
- Halverson, K., Heard, S. B., Nason, J. D. & Stireman, J. O. (2008):** Origins, distribution, and local cooccurrence of polyploid cytotype in *Solidago altissima* (*Asteraceae*). – *Amer. Journ. Bot.* 95: 50–58.
- Hanzl, M. (2010):** Ekologické a evoluční procesy v primární kontaktní zóně cytotypů chřastavce rolního (*Knautia arvensis* agg.). – Ms., 40 p. [Bakalářská práce; depon. in: Knihovna katedry botaniky PřF UK, Praha]
- Hegi, G. (1927):** Illustrierte Flora von Mittel-Europa: mit besonderer Berücksichtigung von Österreich, Deutschland und der Schweiz. Vol. 5/2. – München.
- Heywood, V. H. & Tutin, G. T. (1968):** Flora Europaea, Rosaceae to *Umbelliferae*. Vol. 2. – Cambridge University Press, Cambridge.
- Hlavaček, A., Jasičová, M. & Zahradníková, K. (1984):** *Libanotis* Zinn – Rebrica. – In: Bertová, L., Hlavaček, A., Holub, J., Jasičová, M., Šourková, M. & Zahradníková, K. (eds), *Flóra Slovenska* IV./1, p. 243–246, Veda, Bratislava.
- Hultén, E. (1950):** Atlas över växternas utbredning i Norden: fanerogamer och ormbunksväxter = Atlas of the distribution of vascular plants in NW Europe. – Generalstabens litografiska anstalt förlag, Stockholm.
- Husband, B. C. (2004):** The role of triploid hybrids in the evolutionary dynamics of mixed-ploidy populations. – *Biol. Journ. Linn. Soc.* 82: 537–546.
- Husband, B. C. & Schemske, D. W. (1998):** Cytotype distribution at a diploid-tetraploid contact zone in *Chamerion (Epilobium) angustifolium* (*Onagraceae*). – *Amer. Journ. Bot.* 85: 1688–1694.
- Janáková, J. & Kubešová, M. in Lepší, M. & Lepší, P. (2009):** Nálezy zajímavých a nových druhů v květeně jižní části Čech XV. – *Sbor. Jihoč. Muz. Čes. Bud., Přír. Vědy* 49: 59–75.
- Jarvis [ed.], Ch. E., Reduron, J.-P., Spencer, M. A. & Cafferty, S. (2006):** Typification of Linnaean plant names in *Apiaceae*. – *Taxon* 55: 211.
- Jäger E. J. [ed.] (2011):** Exkursionsflora von Deutschland. Gefäßpflanzen: Grundband. Ed. 20. – Spektrum. Akademischer Verlag, Heidelberg.
- Jovtchev, G., Schubert, V., Meiter, A., Barow, M. & Schubert, I. (2006):** Nuclear DNA content and nuclear and cell volume are positively correlated in angiosperms. – *Cytogen. and Genome Res.* 114: 77–82.
- Johnson, M. T. J., Husband, B. C. & Burton, T. L. (2003):** Habitat differentiation between diploid and tetraploid *Galax urceolata* (*Diapensiaceae*). – *Int. Journ. Pl. Sci.* 164: 703–710.
- Jordanov, D. & Kožuharov, S. (1982):** Flora reipublicae popularis Bulgaricae. Vol. 8. – Aedibus Academiae Scientiarum Bulgaricae, Sofia.
- Keeler, K. H. & Davis, G. A. (1999):** Comparison of common cytotypes of *Andropogon gerardii* (*Andropogoneae, Poaceae*). – *Amer. Journ. Bot.* 86: 974–979.
- Knight, C. A., Molinarin, A. & Petrov, D. A. (2005):** The large genome constraint hypothesis: evolution, ecology and phenotype. – *Ann. Bot.* 95: 177–190.

- Kolář, F., Štech, M., Trávníček, P., Rauchová, J., Urfus, T., Vít, P., Kubešová, M. & Suda, J. (2009):** Towards resolving the *Knautia arvensis* agg. (*Dipsacaceae*) puzzle: primary and secondary contact zones and ploidy segregation at landscape and microgeographic scales. – *Ann. Bot.* 103: 963–974.
- Koutecký, P., Štěpánek, J. & Baďurová, T. (2012):** Differentiation between diploid and tetraploid *Centaurea phrygia*: mating barriers, morphology and geographic distribution. – *Preslia* 84: 1–32.
- Kovaříková, J. (1978):** Vnější a vnitřní stavba plodů vybraných zástupců rodu *Seseli* L. a *Libanotis* Hill. – Ms., 148 p. [Dipl. práce; depon. in: Knihovna katedry botaniky PřF UK, Praha]
- Kubát K., Hrouda L., Chrtek J. jun., Kaplan Z., Kirschner J. & Štěpánek J. [eds] (2002):** Klíč ke květeně České republiky. – Academia, Praha.
- Levin, D. A. (1983):** Polyploidy and novelty in flowering plants. – *The American Naturalist*. 122 (1): 1–25.
- Levin, D. A. (2002):** The role of chromosomal change in plant evolution. Oxford series in ecology and evolution. – Oxford University Press, New York.
- Linné, C. von (1753):** Species plantarum, exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus secundum systema sexuale digestas, vol. 1. Laurentii Salvii.
- Loureiro, J., Rodriguez, E., Doležal, J. & Santos, C. (2006):** Flow Cytometric and Microscopic Analysis of the Effect of Tannic Acid on Plant Nuclei and Estimation of DNA Content. – *Ann Bot.* 98: 515–527.
- Loureiro, J., Trávníček, P., Rauchová, J., Urfus, T., Vít, P., Štech, M., Castro, S. & Suda, J. (2010):** The use of flow cytometry in the biosystematics, ecology and population biology of homoploid plants. – *Preslia* 82: 3–21.
- Lumaret, R., Guillermin, J.-L., Delay, J., Ait Lhaj Loutfi, A., Izco, J. & Jay, M. (1987):** Polyploidy and habitat differentiation in *Dactylis glomerata* L. from Galicia (Spain). – *Oecologia* 73: 436–446.
- Mable, B. K. (2004):** Why polyploidy is rarer in animals than in plants?: myths and mechanisms. – In: Leitch, A. R., Soltis, D. E., Soltis, P. S., Leitch, I. J. & Pires, J. C., Biological relevance of polyploidy: ecology to genomics, p. 453–466, *Biol. J. Linn. Soc.* 82.
- Májovský, J., et al. (1970):** Index of chromosome numbers of Slovakian flora (Part 1). – *Acta Fac. Rerum Nat. Univ. Comen., Bot.* 16: 1–26.
- Májovský, J., Murín, A. et al. (1987):** Karyotaxonomický prehľad flóry Slovenska. – Veda, Bratislava.
- Markova, M. & Robeva, P. N. (1972):** Reports. – In: Löve, A. [ed.], IOPB chromosome number reports XXXVI., *Taxon* 21: 333–346.
- Maude, P. F. (1939):** The Merton catalogue a list of the chromosome numerals of species of British flowering plants. – John Innes Horticultural Institution, Merton, 38: 1–31.
- Meusel, H., Rauschert, S., Weinert, E. & Jäger, E. (1978a):** Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora. Band 2. Karten. – Gustav Fischer, Jena.
- Meusel, H., Rauschert, S., Weinert, E. & Jäger, E. (1978b):** Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora. Band 2. Text. – Gustav Fischer, Jena.
- Mirek, Z., Piękoś-Mirkowa, H., Zając, A. & Zając, M. (2002):** Flowering plants and pteridophytes of Poland. A checklist. – W. Szafer Institute of Botany, Kraków.
- Moore, D. M. (1982):** Flora Europaea Check-List and Chromosome Index. Vol. 1. University Press, Cambridge.
- Mozolová, K. (2007):** Cytogeografie a populační struktura druhu *Pimpinella saxifraga* L. – Ms., 158 p. [Dipl. práce; depon. in: Knihovna katedry botaniky PřF UK, Praha]

- Mráz, P. (2012):** Význam polyploidie, hybridizácie a asexuálneho rozmnožovania v evolúcii cievnatých rastlín. – Habilitačná práca, Masarykova univerzita v Brně, Přírodovědecká fakulta, Ústav botaniky a zoologie.
- Mráz, P., Bouchier, R. S., Treier, U. A., Schaffner, U. & Müller-Schärer, H. (2011):** Polyploidy in phenotypic space and invasion context: a morphometric study of *Centaurea stoebe* s.l. – *Int. J. Pl. Sci.* 172: 386–402.
- Opiz, M. (1852):** Seznam rostlin květeny české. Malá encyklopedie nauk, X. – Praha.
- Oprea, A. (2005):** Lista critică a plantelor vasculare din România. Editura universităţii “Alexandru Ioan Cuza”, Iaşi.
- Otto, S. P. & Whitton, J. (2000):** Polyploid incidence and evolution. – *Ann. Rev. Genet.* 34: 401–37.
- Pardo, C. (1981):** Estudio sistemático del género *Seseli* L. (*Umbellifereae*) en la Península Ibérica. – *Lazaroa*, 3: 163–188.
- Pawłowski, B., Koczwara, M. & Szafer, W. (1960):** Flora Polska: rośliny naczyniowe Polski i ziem ościennych. T. IX, Dwuliścienne wolnopłatowe-dwuokwiatowe. Cz. VII. – Państwowe wydawnictwo naukowe, Kraków.
- Peev & Andreev, N. (1978):** Reports. – In: Löve, Å. [ed.], *IOPB Chromosome numbers reports*, LXII. – *Taxon* 27: 534–535.
- Peschkova, G. A. [ed.] (2006):** Flora of Siberia: *Geraniaceae–Cornaceae*, vol. 10. – Science Publishers, Enfield.
- Pignatti, S. (1982):** Flora d'Italia. Vol. 2. – Edagricole, Bologna.
- Pimenov, M. G. (1993):** The Identity of Himalayan "*Seseli sibiricum*" (*Umbelliferae*). – *Kew Bull.* 48: 781–785.
- Pimenov, M. G., Dauschkevich, J. V., Vasil'eva, M. G. & Kljuykov, E. V. (1996):** Reports (716–748). – In: Kamari, G., Felber, F. & Garbari, F., *Mediterranean chromosome number reports* 6, *Fl. Medit.* 6: 288–307.
- She, Menglan, Pimenov, M. G., Kljuykov, E. V. & Watson, M. F. (2005):** *Libanotis*. – In: Wu Zheng-yi, Raven, P. & Hong Deyuan (eds), *Flora of China* 14: 117–122, Missouri Botanical Garden, St. Louis; Science Press, Beijing.
- Pogan E., Wcisło H., Izmailow R., Przywara L. et al. (1982):** Further studies in chromosome numbers of Polish Angiosperms. Part XVI. – *Acta Biol. Cracov., Ser. Bot.* 24: 159–189.
- Presl, J. S. (1846):** Wšeobecný rostlinopis, čili: Popsání rostlin we všelikém ohledu užitečných a škodlivých. Díl 1. Spisů musejních číslo XXIII. 730.
- Ramsey, J. & Schemske, D. V. (1998):** Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. – *Annual Review of Ecology and Systematics* 29: 467–501.
- Retina, T. A. (1985)*:** On karyotypes of some species of the genus *Seseli* L. (*Umbelliferae*). – *Biol. Nauki* 3(255): 72–75. [cit. sec. Goldblatt & Johnson, 2003 (www 8)]
- Rostovtseva, T. S. (1976):** Čísla chromosom nekotorych vidov semejstva *Apiaceae* v južnoj Sibiri. – *Bot. Žurn.* 61(1): 93–99.
- Rostovtseva, T. S. (1982):** Čísla chromosom nekotorych vidov semejstva *Apiaceae* III. – *Bot. Žurn.* 67(2): 206–210.
- Rostovtseva, T. S. (1984)*:** Chromosomnye čísla cvetkovych rastenij Sibiri i Dal'nego Vostoka. – *Nauka. Novosibirsk.* [cit. sec. Goldblatt & Johnson, 2003 (www 8)]
- Rothera, S. L. & Davy, A. J. (1986):** Polyploidy and habitat differentiation in *Deschampsia cespitosa*. – *New Phytol.* 102: 449–467.

- Rothmaler, W., Werner, K. & Schubert, R. (1984):** Exkursionsflora für die Gebiete der DDR und der BRD. Bd. 2, Gefäßpflanzen. Ed. 12. – Volk u. Wissen, Berlin.
- Rothmaler, W., Vent, W. & Schubert, R. (1994):** Exkursionsflora von Deutschland. Band 4, Gefäßpflanzen: Kritische Band. Ed. 8. – Volk u. Wissen, Berlin.
- Rothmaler, W., Werner, K. & Jäger, E. (2007):** Exkursionsflora von Deutschland. Band 3, Gefäßpflanzen: Atlasband. Ed. 11. – Spektrum Akademischer Verlag, Berlin.
- Săvulescu, T. (1958):** Flora Republicii Populare Romîne: Flora reipublicae popularis romanicae. Vol. 6. – Editura Academiei Republicii Populare Romîne, Bucuresti.
- Sell, P. & Murrell, G. (2009):** Flora of Great Britain and Ireland. Vol. 3. – Cambridge University Press, Cambridge.
- Semerenco, L. V. (1985):** Čísla chromosom nekotorych vidov flori Belorusii. – Bot. Žurn. 70: 130–132.
- Schlaepfer, D. R., Edwards, P. & Billeter, R. (2010):** Why only tetraploid *Solidago gigantea* (Asteraceae) became invasive: a common garden comparison of ploidy levels. – Oecologia 163: 661–673.
- Schönfelder, P. & Bresinsky, A. (1990):** Verbreitungsatlas der Farn- und Blütenpflanzen Bayerns. – Ulmer, Stuttgart.
- Schönfelder, P. & Haeupler, H. (1988):** Atlas der Farn- und Blütenpflanzen der Bundesrepublik. – Ulmer, Stuttgart.
- Schwarzová, J. (2012):** Obsah DNA a AT/GC genomový poměr v čeledi *Apiaceae*. – Ms, 86 p. [Dipl. práce; depon. in: PřF Masarykovy univerzity, Brno]
- Silvestre, I. (1978):** Contribución al estudio cariológico de la familia *Umbelliferae* en la Península Ibérica. – Lagasalia 7(2): 163–172.
- Slavík, B. & Tomšovic, P. (1997):** *Libanotis pyrenaica* (L.) Bourgeau – žebřice pyrenejská. – In: Slavík, B. (ed.), Květena České republiky 5, p. 360–363. Academia, Praha.
- Soltis, D. E. & Soltis, P. S. (1999):** Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. – Tree 14: 348–352.
- Soltis, D. E., Albert, V. A., Leebens-Mack, J., Bell, C. D., Paterson, A. H., Zheng, C., Sankoff, D., de Pamphilis, C. W., Wall, P. K. & Soltis P. S. (2009):** Polyploidy and angiosperm diversification. – Amer. Journ. Bot. 96: 336–348.
- Sterner, R. (1922):** The continental element in the flora of South Sweden. – Geografiska Annaler 4: 333–334.
- Suda, J. & Trávníček, P. (2006):** Reliable DNA ploidy determination in dehydrated tissues of vascular plants by DAPI flow cytometry – new prospects for plant research. Cytometry A 69(4): 273–280.
- Suda, J. (2011):** Průtoková cytometrie a její využití v botanice (Applications of flow cytometry in plant research). – Zprávy Čes. Bot. Společ. 46, Mater. 25: 21–42.
- Šmarda, J. (1961):** Vegetační poměry Spišské kotliny: studie travinných porostů. – Vyd. Slovenskej akademie vied, Bratislava.
- Šmarda, J. (1963):** Rozšíření xerothermních rostlin na Moravě a ve Slezsku: zprávy o vědecké činnosti 1. Brno. [Přílohy – mapa 145]
- Štěpánek, J. (1997):** *Pimpinella saxifraga* L. – bedrník obecný. – In Slavík, B. (ed.), Květena České republiky 5, p. 340–343. Academia, Praha.
- Trávníček, P., Eliášová, A. & Suda, J. (2010):** The distribution of cytotypes of *Vicia cracca* in Central Europe: the changes that have occurred over the last four decades. – Preslia 82: 149–163.

- Trávníček, P., Dočkalová, Z., Rosenbaumová, R., Kubátová, B., Szelağ & Chrtek, J. (2011a):** Bridging global and microregional scales: ploidy distribution in *Pilosella echiioides* (Asteraceae) in central Europe. – Ann Bot. 107: 443–454.
- Trávníček, P., Kubátová, B., Čurn, V., Rauchová, J., Krajníková, E., Jersáková, J. & Suda, J. (2011):** Remarkable coexistence of multiple cytotypes of the *Gymnadenia conopsea* aggregate (the fragrant orchid): evidence from flow cytometry. – Ann Bot. 107: 77–87.
- Uhrová, D. (1984):** Rozšíření druhu *Libanotis pyrenaica* na území ČSSR. – Ms., 57 p. [Dipl. práce; depon. in: Knihovna katedry botaniky PřF UK, Praha]
- Vaněček, J. (1969):** Květena Horažďovicka (Materiál k floristickému výzkumu Horažďovicka). – Krajské středisko státní památkové péče a ochrany přírody v Plzni, Plzeň.
- Vítek, E., Kiehn, M., Pascher, K. et al. (1992):** Beiträge zur Flora von Österreich – weitere Chromosomenzählungen. – Vehr. Zool.-Bot. Ges. Österreich 129:215–226.
- Wetschnig, W. & Leute, G. H. (1991):** Chromosomenzahlen Karntner Gefäßpflanzen (Teil 2, Doldenblütler – *Apiaceae* = *Umbelliferae*). – Linzer Biol. Beitr. 23(2): 457–481.
- Zajac, A. & Zajac, M. (2001):** Atlas rozmieszczenia roślin naczyniowych w Polsce: Distribution atlas of vascular plants in Poland. – Instytut Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków.
- Zázvorka, J. (2000):** *Orobanch* L. – zářaza. – In: Slavík, B. [ed.], Květena České republiky 6: 489 – 513, Academia, Praha.

9.1 Seznam použitých webových stránek:

www 1. 31.3.2013 **Mapa s rozšířením ve Francii**

http://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/610580

www 2. 10.4.2013 **Flora Nordica** (Fröberg, L., 2008 – Apiaceae)

<http://www.floranordica.org/publicreview/publicreview.html>

www 3. 10.4. 2013 **Mapa Pyrenejského poloostrova s výskytem *Seseli libanotis***

<http://www.anthos.es/index.php?lang=en> 11.4.2013

www 4. 14.4. 2013 **Mapa Německa**

<http://www.floraweb.de/MAP/scripts/esrimap.dll?name=florkart&cmd=mapflor&app=distflor&ly=gw&taxnr=5540>

www 5. 14.4. 2013 **Mapa Bavorska a ploidie**

http://www.bayernflora.de/de/info_pflanzen.php?taxnr=5540

www 6. 14.4. 2013 **Flora iberica (10. svazek, str. 205)**

www.floraiberica.es

www 7. 10.4. 2013 **Rozcestník adres**

http://botanicaljourneys.com/index.php?option=com_content&view=article&id=47&Itemid=2

www 8. 30.3. 2013 **Databáze Goldblatt, P. & JOHNSON D. E. [eds.] (2003): Index to plant chromosome numbers 1975–2000.** Missouri Botanical Garden, St. Louis.

Dostupné z

<http://www.tropicos.org/NameSearch.aspx?projectid=9>

www 9. 10.4. 2013 **Karyologická databáza kaprad'orostov a semenných rostlín Slovenska**

Marhold, K., Mártonfi, P., Mered'a, jun. P., Mráz, P., Hodálová, I., Kolník, M., Kučera, J., Lihová, J., Mrázová, V., Perný, M., Valko, I.

<http://www.chromosomes.sav.sk/main/index.php>

www 10. 7.1. 2013 **Databáze chromozomů ČR**

http://www.ibot.cas.cz/sites/File/menu/vedecka_cinnost/oddeleni_a_vyzkumna_centra/oddeleni_taxonomie/c1_ii_a_chromozomove_pocty.xlsČR

www 11. 14.4. 2013 **Mapa Británie a Irska**

http://www.bsbimaps.org.uk/atlas/map_page.php?spid=1907.0&dateorder=ASC

www 12. 10.5. 2013 **Ellenbergovy indikační hodnoty**

<http://statedv.boku.ac.at/zeigerwerte/?art=seseli>

9.2 Seznam map k rozšíření *Libanotis pyrenaica*:

Benkert et al., 1996 (map. 1077)

Hlavaček et al., 1984 (ma. 44, str. 250) – Slovensko

Hultén, 1950 (map. 1991, str.342) – Skandinávie

Meusel et al., 1978a (str. 313) – Evropa, Asie, Afrika

Pardo, 1981 (map. 2, str. 169) – Pyrenejský poloostrov

Slavík & Tomšovic, 1997 (5:31) – Česká republika

Sterner, 1922 (map. 20, str.334) – Jih Švédska

Uhrová, 1984 (příloha) – Československo

Šmarda, 1961 (map. 43 str. 241) – Spišská kotlina

Šmarda, 1963 (map. 145) – Morava a Slezsko

Schönfelder & Bresinsky, 1990 (map. 1148)

Schönfelder & Haeupler, 1988 (map. 1069)

Zajac & Zajac 2001 (map. 331) – Polsko

a z webových stránek:

www 1. Francie

www 2. Norsko, Švédsko, Dánsko, Finsko

www 3. Pyrenejský poloostrov

www 4. Německo

www 5. Bavorsko

www 11. Británie a Irsko